

## Détection du Synacthène dans le plasma dans le cadre contrôle anti-dopage

Ayman Chaabo(1,2) • Corinne Buisson(1) • Jean-Claude Tabet(2) • Françoise Lasne(1)

(1)Département des analyses, Agence Française de lutte contre le dopage (AFLD) Châtenay Malabry • (2)Université Pierre et Marie Curie - Chimie structurale organique et biologique (CSOB) (UMR 7613) Paris

La spectrométrie de masse en tandem SM/SM est devenue un outil très puissant pour la détection et l'identification des hormones peptidiques présentes à l'état de traces dans les milieux complexes (plasma, urine) dans le cadre de contrôle anti-dopage. En utilisant des transitions de suivi de réaction de fragmentation caractéristiques (SRM), il est maintenant possible d'identifier des peptides avec une sensibilité de l'ordre de la fmole/mL.

Le Synacthène® (tétracosactide) est un médicament de synthèse correspondant aux 24 premiers acides aminés de l'hormone hypophysaire adrenocorticotropine (ACTH), et présentant la même activité biologique en stimulant la synthèse par le cortex surrénal de différents stéroïdes (Glucocorticoïdes, minéralo-corticoïdes et androgènes).

Il est principalement utilisé en clinique pour déterminer l'origine primitive ou secondaire d'une insuffisance surrénalienne. L'utilisation de ce produit peut être détournée chez les sportifs dans un but du dopage afin de stimuler en particulier la synthèse des glucocorticoïdes du fait de leurs effets anti-inflammatoires. L'agence mondiale anti-dopage (AMA) prohibe la prise de synacthène en et hors compétition. Il est donc nécessaire de disposer d'une méthode analytique pour détecter cette substance. La seule méthode publiée jusque là repose sur une purification par chromatographie d'immuno-affinité et analyse par HPLC/MS/MS. Sa limite de détection (LOD) est de 300 pg/mL ce qui correspond à la valeur pic de ce produit (200-300 pg/mL) 12 h après une administration de 1 mg du Synacthène® retard. Nous proposons une méthode spécifique plus sensible capable de détecter le Synacthène à des concentrations de l'ordre d'une dizaine de pg/mL.

Cette méthode comporte une phase préparative du plasma par chromatographie d'échange de cations et extraction sur phase solide (SPE). La phase analytique est réalisée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem en mode d'ionisation positive par électronebulisation (TSQ Vantage Thermo Fischer Scientific). L'identification du Synacthène a été effectuée en utilisant deux transitions SRM : analyse des ions fils  $m/z$  223,1 et  $m/z$  671,2 issus de l'ion parent cinq fois chargés  $m/z$  587,5. La quantification a été réalisée

en utilisant le 7-38 ACTH comme standard interne SI.

La méthode a été validée avec un rendement estimé à 73%. Une courbe de calibration linéaire a été obtenue de 25 à 600 pg/mL. La limite de détection de la méthode a été établie à 8 pg/mL avec un signal/bruit de fond (S/BF) > 3. La limite de quantification a été établie à 16 pg/mL avec (S/BF) > 10 et CV% < 20%. La performance de la méthode a été illustrée par l'analyse d'échantillons de plasma (prélevés à des temps différents et sur 8 heures) de 9 sujets ayant reçu une administration intramusculaire IM soit de Synacthène® (5 sujets) soit de Synacthène® retard (4 sujets). Des concentrations allant de 16 à 310 pg/mL ont été observées.

Cette méthode analytique d'identification et de quantification du Synacthène dans le plasma répond parfaitement aux besoins des analyses de contrôle anti-dopage en raison de sa sensibilité et de sa spécificité.